

第5回近畿脳腫瘍研究会

昭和52年3月26日 午後1時~5時

於：大阪ロイヤルホテル

(世話人代表 神戸大学 松本 悟)

1. 脳腫瘍の髄液細胞診

—われわれの経験と工夫
およびその手技について—

京大脳神経外科

山下純宏, 織田祥史, 武内重二,
内田泰史, 中尾 哲, 半田 肇

脳腫瘍の髄液細胞診の方法は大きく分けて、1) centrifugation technique, 2) membrane-filter technique, 3) sedimentation technique の3つの方法がある。centrifugation 法は細胞に対する機械的損傷が強く、最近では余り用いられない。われわれは主として2)と3)とを用いている。membrane filter 法の利点は、髄液を他の検査に使用しうること、membrane のまゝ、細胞を培養しうることである。欠点としては、たとえば溶かしたとしても membrane の破片が、顕微鏡観察の障害となることである。sedimentation 法の長所は細胞がガラス面にはり付くので、顕微鏡観察に好適であることであるが、一方、欠点は髄液が濾紙に吸取られて了うので、他の検査に使えないこと、および、かなりの量の細胞が濾紙に吸われて失われることである。

われわれは、頭蓋内圧の変動を最小限に保ちながら、最大量の細胞を採集することを目的として、次のような方法を考察した。すなわち、2カ所で腰椎穿刺を行ない、cranial needle から、spinal drainage 用のビニール管を cranial の方向へ送り込み、三方活栓と注射器を操作することにより髄液を回転させる(図1)。この方法の欠点は、手技が煩雑であることと、1回目の穿刺により髄液腔が collapse して2回目の穿刺が困難となることがある点である。そこでこれを簡略化して、最近では、1カ所で腰椎穿刺を行ない、2個の三方活栓と接続管で loop を形成し、membrane filter を介して髄液を回転する方法を用いている(図2)。染色は May-Grünwald 液および Giemsa 液を用

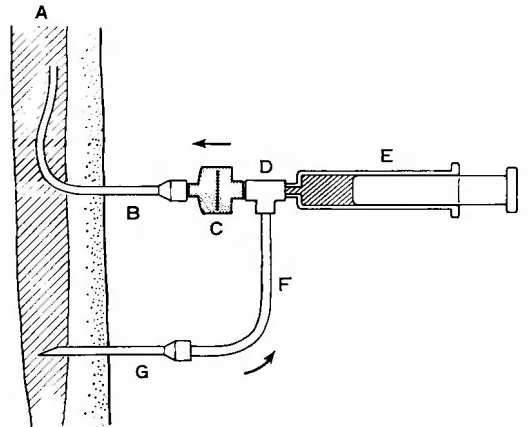


図 1

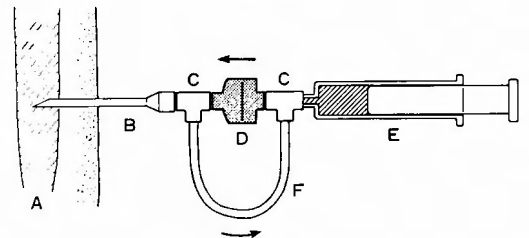


図 2

いている。この方法を用いて、陽性所見が得られた11例 (germinoma 5, medulloblastoma 1, pontine-glioma 1, ependymoma 1, metastatic tumor 2, malignant lymphoma 1) の実例を示し、髄液細胞診の有用性を強調した。

2. ラット実験的脳腫瘍の2倍体及び4倍体細胞の動態について

神戸大学脳神経外科

田中 允, 藤原 潔, 松本 悟,
マックス・プランク脳研究所 (ケルン,
西ドイツ)

H. D. Mennel, M. Braun

Nitroso compounds 投与で生ずるラット脳腫瘍は、組織学的には polymorphism を特徴とし、たとえば isomorphous glioma であっても、継代移植によりあるいは腫瘍の巨大化につれて polymorphism を生じて来る。

私たちは腫瘍を構成する2倍体及び4倍体細胞を分離し、その形能と増殖とを観察した。Methylnitrosourea 投与により生じた(総量140mg/kg)ラットの isomorphous ependymoma の初代培養で single cell culture を行ない、幾つかの clone を得たが in vitro で形態学的に異なる2種の clone (RGL-1 及び2)を注意深く観察した。RGL-1系は in vitro で典型的な astrocytic pattern を示し、染色体数は低2倍体を示した。RGL-2系は in vitro で bipolar な spindle pattern を示し、染色体数は低2倍体で、³H-thymidine を使用した chase method によるオートラヂオグラフィで、Tc: 27hrs, TGI: 13hrs, Ts: 9hrs, TG₂: 2hrs, TM: 3hrs であった。H. D. Mennel らの実験では、これらクローンは S-100 protein を含有することが確認されている。RGL-1系の染色体数のモードは不安定で3倍体を経て、培養開始1年後には低4倍体に安定した。RGL-2系は常に他2倍体を示した。この時期のオートラヂオグラフィでは、RGL-1系では、Tc: 26hrs, TGI: 9hrs, Ts: 11hrs, TG₂: 2hrs, TM: 4hrs で、また RGL-2系では、Tc: 26hrs, TGI: 13hrs, Ts: 9hrs, TG₂: 2hrs, TM: 3hrs であった。両細胞系を生後5-6週目のラット脳内に移植(細胞数: 5000~20,000)し、動物が腫瘍死するまでの期間は RGL-1系で10~30日、RGL-2系で20~40日であった。in vivo での組織像は RGL-1は anaplastic polymorphous glioma で RGL-2は isomorphous tumor であった。

結論として、isomorphous ependymoma より2倍体及び4倍体の腫瘍細胞系を得たが、両者の増殖能に大差はなかったが、in vivo, in vitro での形態は異なっていた。

3. 脳腫瘍に対するニトロソウレア系制癌剤 ACNU の効果と投与方法の検討

大阪大学 脳神経外科

中川秀光, 堀 正治, 早川 徹,
最上平太郎

悪性グリオーマの治療は現段階では放射線とか制癌剤の補助療法が必要とされており、現在種々のニトロ

ソウレア系制癌剤が注目されている¹⁾²⁾。今回は本邦で開発されたニトロソウレア系制癌剤 ACNU について実験的脳腫瘍を用いてその抗腫瘍効果ならびに放射線との併用効果について検討を加えたので報告する³⁾。

実験に使用した脳腫瘍モデルは C₅₇BL マウスに methylcholanthrene で誘発した malignant glioma を皮下継代した腫瘍とその腫瘍細胞を単層細胞培養法に継代したものをを用いた。in vitro の実験では、継代後24時間後 medium に ACNU 5~10μg/ml を添加して、その細胞数をコントロール群と比較した結果、細胞増殖は完全に抑制された。次に medium に ACNU 10μg/ml, 50μg/ml と 1μCi の ³H-thymidine, ³H-Uridine, ³H-leucine を加え、acid insoluble fraction への取り込み影響を liquid scintillation counter にて調べた結果、³H-thymidine 及び ³H-Uridine は ACNU の濃度に応じて減少し DNA, RNA の合成阻害が示唆されたが、³H-leucine の取り込みは抑制されず蛋白合成に対する影響は軽微であった。in vitro の実験では皮下移植腫瘍の大きさを経時的に計測することにより観察した。ACNU 1, 5, 10mg/kg の隔日5回投与(筋注)で1mg/kg の例では軽度の、5~10mg/kg の例では明らかな増殖抑制を示し10mg/kg では殆んど約4週で腫瘍の消失がみられた。これら治療マウスの生存日数についてもコントロール群に比して、それぞれ2倍、3倍、4倍の延長がみられた。次に ACNU 10mg/kg, 20mg/kg 一回投与(筋注)についてしらべたが、10mg/kg 群では3週頃に腫瘍増殖抑制が最高になるが、その後一旦縮小した腫瘍が再び増大をきたす。20mg/kg 群では4週で消失するものが多いが、一部再増大例もある。しかし20mg/kg の ACNU 1回投与でもかなりの体重減少がみられ副作用も無視できない印象をうけた。そこで ACNU と X 線 irradiation との併用による抗腫瘍効果の増強を実験的に試みた。irradiation は皮下(右大腿部)腫瘍部に1回のみ行うようにした。irradiation 620rad, 1240rad の単独例では腫瘍増殖抑制が照射量に比例してみられたが、腫瘍の縮小までには至らなかったのに対して、ACNU 10mg/kg と 620rad の併用群では ACNU 10mg/kg 単独投与群に比し腫瘍縮小率はほとんど同じであるが、早期より縮小傾向がみられた。1240rad 併用群ではその抗腫瘍効果は著明で ACNU 20mg/kg 単独投与群と同じような腫瘍径の推移を示すが、20mg/kg 投与群にみられるような体重減少はほとんどみられず優れた効果と副作用の軽減が

期待される。今後は更に薬剤の投与量，方法とともに放射線の照射量，照射時間などをきまかく検討し，より安全で有効な脳腫瘍の補助療法を開発していきたい。

参 考 文 献

- 1) Tator, C. H. Chemotherapy of an experimental glioma with nitrosoureas. *Cancer Res* 37 476-481, 1977.
 - 2) Walker, M. D. : Nitrosoureas in central nervous system tumors. *Cancer chemotherapy Rep* 4 21-26, 1973.
 - 3) 長谷川洋その他；—トレスウレア系薬剤の抗脳腫瘍効果に関する実験的研究。脳と神経 in print.
- #### 4. 脳腫瘍プロテアーゼの動態

京大 脳神経外科

西浦 徹，半田 肇

同上 病態 村地 孝

目的 腫瘍と蛋白分解酵素の関係が種々研究されており，特に腫瘍の進展が中性プロテアーゼによって促進されるといわれている。一方，発癌機構の解明がプロテアーゼインヒビターを使って試みられている。脳の蛋白分解酵素には酸性及び中性プロテアーゼがあり，特に後者は Ca 及びシステインによって活性化されることが知られている。われわれはこれら脳内プロテアーゼの生理的病的意義を明らかにすると共に，プロテアーゼインヒビターの脳腫瘍治療への応用を探求する目的で研究を開始した。

方法 試料としてラット及びマウス脳，手術時別出脳腫瘍のホモジネート凍結融解後の 105,000g 遠沈上清を用いた。プロテアーゼ活性はトリクロル酢酸沈澱液の Lowry 法による吸光度増加で計測した。

結果 酸性領域でのヘモグロビン水解活性は 4.5 に至適 pH を持ちペプスタチンでほぼ完全に阻害されるのでカテプシン D (又は E) によるものと考えられる。中性領域ではカゼイン水解活性は微弱ではあるがシステインによって活性化される 6.0 に至適 pH をもつものと Ca 及びシステインの添加によって数倍増強される 7.8 に至適 pH をもつものがあった。以上の結果をもとに脳腫瘍の pH 4.5, 6.0, 7.8 活性を測定したところいずれの活性も高値であったが，特に pH 7.8 活性がグリオブラストーマに高いことが特徴的であ

た。一方，脳に特異的な S-100 蛋白によって中性の pH 7.8 活性が阻害された。また，培養細胞の増殖がプロテアーゼインヒビターにより抑制された。

考察 脳中性活性がプロテインキナーゼを活性化するといわれているが，上記の結果より，脳中性活性，S-100，プロテインキナーゼの 3 者に一連の関係を有する事が示唆された。

5. 実験的脳腫瘍の発生条件に関する研究 (I) 化学発癌物質の脳 DNA 合成に及ぼす影響

奈良医大脳神経外科

乾 松司，内海庄三郎，堀 浩

奈良医大がんセンター腫瘍病理

伝田阿由美，小西陽一，小島清秀

Ethyl nitrosourea の経胎盤投与モデルを用い，脳腫瘍発生条件に関する検索を試みた。従来より ENU の脳と他臓器 DNA 合成に与える影響が異なっているという報告はみられるが，今回は，transplacental には標的未知な H-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (DHPN)，4-Hydroxyaaminoquinoline-1-oxide (4-HAQO) の両者を ENU の対照群とし ^3H -thymidine と DNA の Incorporation を指標として検討した。

1. 方法：動物は妊娠 18 日目，体重 260g 前後の Wistar rats を用い ENU は 50mg/kg，DHPN は 2000mg/kg，4-HAQO は 7mg/kg を股静脈より投与し， ^3H -Thymidine は体重 1g あたり 1 μCi 腹腔内投与，投与後 2 時間で sacrifice した。

2. 結果：Carcinogen 投与後 4 時間では ENU，DHPN，4-HAQO の各群で Fetal Brain の DNA の合成は Control 群の 1mg DNA あたりの cpm を 100% とすると，それぞれ 12.3%，14.4%，12.7%，と大差なく著明な DNA 合成阻害を見た。次に DNU の投与量を 10mg，25mg，50mg，75mg と変化させ DNA 合成阻害との相関をみたが，10mg でも十分な影響がみられ投与量との大きな依存性はなかった。さらに阻害された DNA 合成の回復過程を carcinogen 投与後 48 時間，72 時間つまり 20 日 21 日目で観察すると control では Brain の maturation に従い ^3H -Thymidine のとりこみが減少してくる。DHPN では 48 時間ですでに control に比較し十分回復がみられるが，4-HAQO，ENU では 20 日目で同日 control に比して，それぞれ 68%，29%，と回復が遅れ 21 日目では control

を上回ったとみこみがみられ殊に ENU では著明であった。

3. 考察: ENU, DHPN, 4-HAQO, 共に4時間での脳DNA合成阻害は大差はなかったが、回復過程には大きな差があり、4-HAQO, ENU, 特に後者では著明であり、脳の maturation が遅れてきていることが示唆された。ところで DHPN, 4-HAQO, を経胎盤投与した offsprings には25週経過した現在、脳腫瘍の発生を一例もみていないという事実からも、障害されたDNA合成回復の遅延とそれに基づくと考えられる maturation の遅延が腫瘍発生条件の一つと考えられることを報告した。

6. rapid high dose radiation therapy を行った転移性多発性脳腫瘍の剖検例

京都第一赤十字病院脳神経外科

竹友重信, 福岡誠之, 垣田清人,
佐々木良造

我々は転移性多発性脳腫瘍例に対し WALID A. HINDO (1970) の方法に従い1回表面量として1000 rads, 深部線量として約750radsの全脳照射を行っているがこの全脳照射を6ヶ月間に5回行った1剖検例について報告する。

症例, 60才男, 昭和50年11月右片麻痺にて入院, 胸部レ線写にて右肺に腫瘍陰影がみられ, 脳シンチ, 脳血管写にて左右大脳半球に数ヶ所転移がみとめられた。その後うっ血乳頭, 意識障害も出現したので steroid, 脳圧降下剤を使用しつつ上記の全脳照射を12月9日に行った。翌日には症状の rapid improvement がみとめられ, 12月19日と12月26日に同様照射を行った。3回目照射後の脳シンチでは positive scan の数が減少していた。外埠通院中昭和51年5月17日腰痛, 歩行障害にて再入院して来た。5月20日と6月3日にそれぞれ全脳照射を行ったが全身転移巣の進行がみられ8月9日肺炎にて死亡した。

剖検では膵癌の転移が右肺, 肝, 脾, 腎, 脊椎および腹部頸部リンパ節にみられた。剖検脳では左右大脳半球にも転移がみられた。一方脳シンチにて消失したと思われる転移巣は壊死に陥って cavitation がみられたが, 組織学的検査ではその周辺には腫瘍細胞が残存していた。残存腫瘍周辺部の血管は肥厚し小出血もみられた。

脳腫瘍の放射線照射については radiation necrosis

に注意すべきことは勿論であるが, 転移性多発性脳腫瘍例では脳圧降下剤, ステロイドを使用しながらこの方法を用いてもよいのではないかと考える。

7. Supra-sellar germinoma 及び Supra-sellar teratoma の臨床病理学的検討

神戸大学 脳神経外科

藤田勝三, 大洞慶郎, 藤原 潔,
玉木紀彦, 松本 悟

過去4年6ヶ月間に, 第3脳室近傍腫瘍85例中, Supra-sellar germinoma 5例及び比較的稀な primary supra-sellar choriocarcinoma 1例計6例を経験したので, 6例の臨床所見及び内分泌学的検査結果について検討を加えて報告する。(結果)性別では男3名, 女3名で年齢は, 6才から23才迄である。初発症状は, 全例 polyuria 及び polydipsia で始まり, 景山等が報告した, 尿崩症, 視力障害, 及び下垂体前葉機能低下の Trias を6例中5例認めた。初発症状から入院迄の期間は3年から7ヶ月間に渡っている。治療方法は, 6例中5例に対して開頭術+腫瘍全剝+放射線療法を行ない, 1例は V-P シャント+放射線療法を行なった。4例は術後改善を示し, 1例は hypothalamic crisis のため術後9日目に死亡, 他の1例は V-P シャント後症状の改善を認めたが, 8ヶ月後腫瘍内出血及び再発のため死亡している。又6例中2例は, precocious puberty を認めている。組織所見は, supra-sellar germinoma の5例は, 小型の lymphoid cell と大型の gonadal cell からなる two cell pattern を呈し, choriocarcinoma は, 胞体がエオジン好染する不規則な大型細胞と syncytiotrophoblast 様の chorioepithelioma cell に類似する組織所見を呈した。内分泌学的検査結果では, TSH 系は正常5例, 低下1例, GH 系は低下5例, ACTH 系は正常1例, 低下4例, LH は亢進2例, 低下3例, FSH は低下5例, ADH 系は正常2例, 低下3例, Prolactin 系は正常4例, HCG 系は亢進2例を示した。予後調査では, Chorio-carcinoma は, 術後7ヶ月目に再発で死亡しているが, 3例は現在元気である。

(考察及び結論) Supra-sellar germinoma は一般に放射線感受性が高く, 40%以上は5年以上の生存が期待されるものと考えられる。又 Chorio-carcinoma はその組織学的悪性度から考えられる様に予後は極めて不良で一年以内に死亡している。内分泌学的検査で

は、GH系>ACTH系>LH.FSH系>ADH系>TSH系の順に内分泌障害発生率が高率となっており、他のトルコ鞍部腫瘍と異なり、ACTH系及びADH系の障害発生率が高い。このことはSupra-sellar germinomaの発生が視床下部の近接部位から発生し、初期に視床下部が障害されるためであろう。

8. 肺転移を認めた meningioma の2症例

大阪赤十字病院脳神経外科

岩元亜彦, 鈴木陽一, 鳴尾好人,
任 清, 幸地延夫, 松島正之,
安藤協三

meningioma の2症例で、その肺転移を確認し得た。

第1例 昭和40年2月初診。右不全片まみを認めた当時56才の男性。左前頭頭頂部の parasagittal meningioma を診断。同年3月約80gの腫瘍をほぼ全摘したが、上矢状静脈洞壁および大脳鎌の附着部は electrocoagulation にとどめた。術後右片まみも改善、経過は順調であった。昭和48年10月全身けいれんがあり腫瘍再発を診断した。昭和49年1月、腫瘍が充満した上矢状静脈洞を含めて大脳鎌の両側に存在する約50gの再発腫瘍を全摘した。腫瘍の組織像は何れも transitional meningioma であった。当時左肺野に楕円形の2.9×2.2cm大の腫瘍陰影を認め meningioma の肺転移を疑った。その後本例は胃癌を発症、昭和51年10月すでに inoperable で試験開腹に終わっている。剖検により、胃角部に発生した胃癌 (adenocarcinoma) を認め、左肺後面胸膜下の腫瘍は transitional meningioma の像を示した。

第2例 昭和41年10月初診。当時37才の女性。右後頭部の parasagittal meningioma と診断。約34gの腫瘍をほぼ全摘。上矢状静脈洞壁との附着部は electrocoagulation を行った。昭和45年12月上矢状静脈洞を腫瘍組織が閉塞しており、これを含めて正中線より右側に頭蓋内外に発育した約96gの再発腫瘍を摘出した。第1回および第2回手術の摘出腫瘍の組織像は hemangiopericytic meningioma であった。昭和51年6月、前回手術部位に接して正中線より左側に発生した約50gの再発腫瘍を摘出したが、その組織像は papillary meningioma に一致した。この時点で、右肺野に meningioma の転移を思わせる2コの coin lesions を認めていた。その後、本例は昭和51年11月に当院呼吸器科で右肺上葉切除ならびに下葉部分切除

を行なって、右上葉に2コ、右下葉に1コ、それぞれ1.5×1.5×2cm大の腫瘍を認め、組織学的にはすべて hemangiopericytic meningioma に一致した。本例は現在、水平下半盲を残すのみで元気に通院している。

meningioma の頭蓋外転移について、文献的考察を加えた。

9. 放射線照射後、早期に一過性神経症状を来した脳腫瘍の2例

北野病院 脳神経外科

山形 専, 菊池晴彦, 古瀬清次,
榊 寿古

脳腫瘍において、放射線療法後にみられる障害は、一般に、照射後すぐにみられる acute reaction と、数ヶ月から数年後に、insidious に起ってくる delayed reaction とに分けられている。今回、私達は照射終了後、比較的早期に、特異な症状を来した2症例を経験したので報告する。第1例は14才の男子で、松果体腫瘍、水頭症の診断下に、脳室腹腔短絡術後、約50日間にわたって、6,000Rのコバルト照射を行った。照射終了1ヶ月後、意識障害、対光反射消失、両側外転神経麻痺、偽球麻痺、四肢痙性麻痺を来した。コンレイ脳室撮影にて、中脳水道部脳孔を認めた。この後、保存的療法で経過観察した所、約6ヶ月後には上記症状は消失した。第2例は35才男子で、左頭頂葉部の oligodendroglioma 再発のため手術し、術後約50日間にわたって6,000Rリニアック照射を行った。照射終了6ヶ月後に、右不全麻痺の増強と共に、クモ膜下出血を来した。この後、保存的療法にて、約1ヶ月後上記症状は改善した。これら2つの症例は、1930年、Fisher が初めて報告し、その後多くの発表がみられる。radiation necrosis とは明らかに異っていると思われる。今回の私達の症例と類似した症例を、Lampert は“early” delayed reaction と呼んで、“late delayed reaction”, いわゆる radiation necrosis と対者させ、この2つは、臨床的にも、病理学的にも、全く異っているとしている。“early” delayed reaction は、臨床的に、発症時期が、数週から数ヶ月の間にあり、しかも症状は急速に進行するが、一過性である。“late” delayed reaction が、多くの場合、non surgical には fatal であることと対照的である。病理学的にも、器官の変化は著明でなく、demyelination の像が認められるのが特徴としている。以上、私達は、放

射線療法後、一過性に神経症状を来し、Lampert等の言う、いわゆる“early” delayed reactionと考えられる2例を経験したので報告した。

特別講演：環状 nucleotides と Ca

神戸大学 生化学
西塚 泰美

Cyclic AMP は最初ホルモン作用の伝達物質として見出されたが、今では広く天然に存在し、広範な生命現象に深い関わりをもつことが知られている。その多岐多彩な作用の本質は、癌細胞に対する増殖抑制作用や固有形態の発現作用にみるように、細胞のもつ本来の分化機能を発揮させ、適応へと導く調節物質とみなすことができるであろう。こうした Cyclic AMP の作用機構は、今日全貌が解明されたとはいえないが、細胞内ではある種の蛋白質磷酸化酵素を活性化させ、その働きによって数多くの酵素や蛋白質を磷酸化し、中間代謝や細胞機能を一斉に調節してゆくと考えられている。それは丁度、外界よりの電波（情報や環境の変化）をアンテナ（受容体）が識別感知し、これを増

巾拡大してゆく真空管の働きに譬えることが出来る。一方、Cyclic AMP と類似する Cyclic GMP は、アセチルコリンによって増量し、細胞増殖時には Cyclic AMP と逆の動向を示すことから生理活性は cyclic AMP と相対するものと想像されている。しかし、cyclic GMP にはそれ固有の積極的な生理活性は認められず、作用機序もまた明らかではない。他方、これらの環状タクロオチドと並んで、カルシウムが第3の情報伝達物質である可能性がにわかに脚光をあびている。私共の最近の解析の結果、cyclic GMP とカルシウムとはいづれもが、cyclic AMP とは異なった様式でそれぞれに対応する蛋白質磷酸化酵素を活性化し、それらの力を借りて cyclic AMP と同様、細胞内の諸機能を調節している可能性が明らかになりつつある。したがって細胞内には外界の変化を的確に把握し、これに迅速に適応、応答してゆくための情報伝達系が幾重にも発達していると思われ、それらの化学的基盤を提示したい。脳神経系においてはこれらの物質は、シナプスでの刺激伝達の直接の担い手というよりは、複雑多彩な神経組織の固有の形態や分化機能の維持に必須不可欠の役割を果しているであろう。